

参芪地黄汤对系膜增殖性肾炎大鼠血流变的影响

★ 徐志东 (广州中医药大学中药学院 广州 510405)

★ 吉训超 (广州中医药大学第一附属医院 广州 510405)

摘要:目的:观察参芪地黄汤对系膜增殖性肾小球肾炎大鼠模型的血流变的影响。方法:选用 Thy-1 大鼠模型,60 只大鼠被随机分为 4 组,即正常对照组、病理模型组、肝素治疗组和参芪地黄汤治疗组,分别观察实验期间模型大鼠 24 小时蛋白定量、尿素氮、血肌酐以及肾组织形态学的改变,并进行血流变学分析。结果:与模型组比较,参芪地黄汤治疗组能够减轻模型组大鼠的尿蛋白,降低血尿素氮、血肌酐值,并能显著降低模型组各项血流变学指标。

关键词:参芪地黄汤;系膜增殖性肾炎;血流变学

中图分类号:R 965 **文献标识码:**A

原发性系膜增生性肾小球肾炎(MsPGN)是以弥漫性肾小球系膜细胞轻度增生,系膜基质中等程度增多,肾小球毛细血管壁正常为主要特征的病理类型,是慢性肾小球肾炎最常见的一种类型,占我国肾活检患者的 24.7%~41.5%。血液流变学异常与血液循环障碍关系密切相关,凝血机制异常在系膜增殖性肾小球肾炎发病中起着重要的作用。肾内微血栓的形成是系膜增生性肾小球肾炎的一个重要病理变化,也是促进肾小球硬化的一个重要因素,并与疾病的严重程度有关。中医认为瘀血是本病十分突出的兼证,且与系膜增生性肾炎的中医证型无关,提示瘀血是多因素殊途同归的病理产物。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物:低龄 SD 大鼠 60 只,体重 120~140 g,雌雄各半。大鼠从广州中医药大学动物中心购进(合格证号:2004A057)。雄性新西兰人(NZW)白兔 10 只,购于广州中医药大学实验动物中心(合格证号:2004A001)。

试剂:肝素(注射用剂,批号:2003708);卡介苗(卫生部成都生物制品研究所提供,批号:2003307,广州威佳公司);完全弗氏佐剂(广州威佳公司);血肌酐试剂盒(批号:2003308,广州威佳公司);尿素氮试剂盒(批号:2003323,广州威佳公司)。

药材:(1)方药组成:黄芪 20 g,党参 15 g,生地 24 g,山茱萸 12 g,丹皮 9 g,泽泻 9 g,山药 12 g,云苓 9 g。中药材均购于广州中医药大学第一附属医院药房,均经中药鉴定室鉴定后使用。(2)加工方法:饮片洗净后,加水适量,浸泡 60 分钟,初煎煮沸 40

分钟,滤出药液,浓缩成 200% (即 2 g/mL)。

1.2 实验方法

1.2.1 模型制备 采用 Thy-1 抗血清制备系膜增殖性肾炎模型。通过分离大鼠胸腺细胞,免疫家兔,制得兔抗大鼠 Thy-1 抗血清,采用连续四次注射 ATS(兔抗大鼠 Thy-1 抗血清),建立大鼠系膜增殖性肾炎模型。

兔抗 Thy1-1 抗血清制备:首先制备大鼠胸腺细胞悬液,取低龄 SD 大鼠 5 只,麻醉后取胸腺,剪碎并经尼龙网过滤,除去混杂的组织,滤液为淋巴细胞悬液,离心,无菌 PBS 悬浮,计数悬液中淋巴细胞数,调节细胞浓度至 10^{11} /L。

免疫家兔:先用卡介苗 3 mL 在雄 NZW 大白兔背、项、四肢掌皮下多点注射进行预致敏,2 周 NZW 大白兔两侧腋淋巴结肿大,此时在 NZW 大白兔背部皮下注射抗原(胸腺细胞+完全弗氏佐剂,以等体积的生理盐水和完全弗氏佐剂把胸腺细胞稀释至 1×10^7 /mL),每只 3×10^7 个细胞。3 周后经耳缘静脉注射相同剂量再次免疫家兔,5 周后进行第三次免疫,第六周测效价,满意后颈动脉放血,收集血清,56℃下灭活 30 分钟,用 Lewis 大鼠压缩红细胞吸附后备用。ATS(家兔抗大鼠 Thy-1 抗血清)组织效价测定:采用间接免疫法,在经过三次免疫后,从家兔耳缘静脉取血 2 mL,测定血清抗胸腺细胞抗体的效价。方法如下:分离大鼠胸腺细胞,用生理盐水稀释至 1×10^8 个/mL,用 20% SRBC(绵羊红细胞)等量混和,经水浴,用 PBS 缓冲液调成 10% 致敏 SRBC,将待测血清用 PBS 缓冲液制成倍比稀释(1:20、1:40、1:80、1:160、1:320、1:640),然后加入致敏

的 SRBC,混匀后置 37 ℃ 水浴 2 小时观察结果。以出现明显凝集试管的待测血清稀释倍数为抗体效价。当效价大于 1:80 时将兔放血,离心后将血清保存在 -4 ℃ 冰箱里备用。

大鼠 Thy-1 肾炎模型的制作:雄性 SD 大鼠(约 150 g),尾静脉注射 ATS,每周 1 次,连续 4 周。

1.2.2 分组及给药方法 分组:实验大鼠随机分为 4 组,正常对照组、病理模型组、肝素治疗组以及参芪地黄汤治疗组。每组 SD 大鼠 15 只。

给药:正常对照组大鼠尾静脉注射生理盐水(10 mL/kg),每周 1 次,连续 4 周。同时灌服生理盐水(10 mL/kg)。病理模型组、肝素治疗组以及中药治疗组,同时尾静脉注射 ATS(10 mL/kg),每周 1 次,连续 4 周,病理模型组每天灌服生理盐水(10 mL/kg);而肝素治疗组每天腹腔注射肝素 0.25 mL,连续 4 周;中药治疗组每天灌胃 1 次(0.5 g/kg)。

1.2.3 24 小时尿蛋白定量 第 4 周结束时用代谢笼收集各组大鼠的 24 小时尿液,加入二甲苯作为防腐剂。实验方法:采用磺基水杨酸比浊法,其原理主要是通过尿蛋白与其蛋白沉淀剂磺基水杨酸作用产生沉淀,用比色法与同样处理的标准液比较,求其结

果。

1.3 统计分析

组间比较采用方差分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 24 小时尿蛋白定量

见表 1。

表 1 各组大鼠 24 小时尿蛋白定量数值比较

组别	标本数	尿蛋白/mg·L ⁻¹
正常组	15	7.27 ± 1.24
模型组	15	36.69 ± 13.89*
肝素治疗组	15	15.22 ± 5.93
中药治疗组	15	14.24 ± 4.43 [△]

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。下同。

2.2 肾功能检测

表 2 各组大鼠血肌酐、尿素氮的测量值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	标本数	Scr/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	UN($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常组	15	41.05 ± 6.06	5.30 ± 0.63
模型组	15	47.48 ± 3.33*	6.88 ± 1.01*
肝素治疗组	15	40.49 ± 6.03 [△]	5.53 ± 0.66 [△]
中药治疗组	15	40.51 ± 5.76 [△]	5.34 ± 0.61 [△]

2.3 血液流变学

见表 3。

表 3 各组大鼠血液流变学变化

组别项目	n	全血低切粘度	全血中切粘度	全血高切粘度	血浆粘度	全血低切还原粘度	全血中切还原粘度	全血高切还原粘度	血沉方程 K 值
正常组	15	16.20 ± 2.25	8.62 ± 1.13*	6.81 ± 0.66	1.40 ± 0.04	10.45 ± 1.33*	13.01 ± 1.27	37.99 ± 2.83	0.55 ± 0.07
模型组	15	27.96 ± 7.15*	12.04 ± 2.33	8.11 ± 1.24*	1.55 ± 0.01*	11.98 ± 2.13	16.98 ± 2.62*	46.85 ± 9.86*	0.68 ± 0.17*
肝素组	15	16.83 ± 2.76 [△]	9.04 ± 1.33 [△]	5.98 ± 0.69 [△]	1.51 ± 0.62 [△]	15.49 ± 0.64 [△]	15.01 ± 1.17 [△]	23.68 ± 3.54 [△]	0.46 ± 0.07 [△]
中剂量组	15	16.8 ± 3.21 [△]	7.98 ± 1.23 [△]	6.56 ± 0.45 [△]	1.42 ± 0.48 [△]	9.60 ± 0.99 [△]	14.09 ± 1.25 [△]	26.93 ± 4.12 [△]	0.35 ± 0.07 [△]

3 讨论

实验结果中,病理模型组与正常组比较,大量的蛋白尿的出现,符合人类系膜增殖性肾炎的病理变化,一般来讲,只有当肾小球滤过率下降到正常人的 1/3 时,血肌酐才明显上升,而肾小球功能必须下降到正常人的 1/2 以上时,血中尿素氮含量才会升高,从实验结果来看,病理模型组血肌酐和尿素氮的含量都显著增加,实验大鼠的肾小球滤过率已经极度

下降,肾功能损害明显,提示本实验造模成功。本实验选择血流变学各项指标(全血低切粘度、全血中切粘度、全血高切粘度、血浆粘度、全血低切还原粘度、全血中切还原粘度、全血高切还原粘度)来观察各个治疗组对血流变指标的影响。结果,肝素治疗组与中药治疗组均可显著降低血流变学指标,虽然全方并无活血化瘀单味药,但是整首方却体现出良好的“活血化瘀”作用,其机理有待进一步研究。

(收稿日期:2005-05-30)

《江西中医药》征订启事

《江西中医药》创刊于 1951 年,是新中国创办最早的中医药杂志,也是第一批进入中文核心期刊的中国医药类核心期刊,并被多家知名权威检索期刊及数据库确定为固定信息源。五十多年来,《江西中医药》发表了数以万计的优秀论文,一大批中医药学者就是从这里走向成功、走向成名的。21 世纪,《江西中医药》迎来的更大的发展机遇,2002 年评为华东地区优秀期刊、江西省优秀期刊,2004 年评为全国高校优秀期刊。2003 年成功改为月刊,赢得了更多读者的青睐。本着“面向临床,面向基层,坚持传统,注重实用”的办刊思路,我们进一步充实内容,调整栏目,使文章更具可读性、实用性、信息性,以满足读者的需要。

《江西中医药》(ISS 0411-9584, CN 36-1095/R)为月刊,面向国内公开发刊。国内邮发代号为 44-5,国外代号为 BM1012。每期定价:4.80 元。